





© BSN 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Mangala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Komposisi	1
4 Syarat mutu	1
5 Pengambilan contoh.....	2
6 Cara uji	2
7 Syarat lulus uji	3
8 Higiene	3
9 Pengemasan	3
10 Syarat penandaan.....	3
Lampiran A (normatif) Cara pengambilan contoh tepung beras.....	4
Lampiran B (normatif) Cara uji tepung beras.....	8
Bibliografi	38
Gambar B.1 - Tepung beras (<i>Oryza sativa</i> Linn) pada pembesaran 400 kali	11
Gambar B.2 - Peralatan Monier-Williams	14
Gambar B.3 - Tingkat pengenceran menggunakan larutan pengencer <i>Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water</i> (BPB).....	26
Tabel 1 - Syarat mutu tepung beras	1
Tabel A.1 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih sama atau kurang dari 1 kg.....	5
Tabel A.2 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 1 kg tapi tidak lebih dari 4,5 kg	6
Tabel A.3 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 4,5 kg.....	6
Tabel A.4 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih sama atau kurang dari 1 kg.....	6
Tabel A.5 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 1 kg tapi tidak lebih dari 4,5 kg	7
Tabel A.6 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 4,5 kg.....	7
Tabel B.1 - Reaksi biokimia <i>E. coli</i> pada uji IMVIC.....	31
Tabel B.2 - APM per 1 g contoh bila menggunakan 3 tabung untuk setiap tingkat pengenceran 0,1; 0,01; dan 0,001 g/ml contoh	31

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) *Tepung beras* ini merupakan revisi SNI 01-3549-1994, *Tepung beras*.

Tujuan penyusunan standar ini adalah :

- Melindungi kesehatan konsumen;
- Menjamin perdagangan pangan yang jujur dan bertanggung jawab;
- Diversifikasi produk atau pengembangan produk;
- Mendukung perkembangan industri tepung beras dan industri pengguna tepung beras.

Standar ini dirumuskan dengan memperhatikan hal-hal yang tertera dalam:

1. Undang-undang Republik Indonesia No. 5 tahun 1984 tentang Perindustrian
2. Undang-undang Republik Indonesia No. 23 tahun 1992 tentang Kesehatan
3. Undang-undang Republik Indonesia No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan
4. Undang-undang Republik Indonesia No. 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen
5. Peraturan Pemerintah No. 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan
6. Peraturan Pemerintah No. 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan
7. Keputusan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan No.03725/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Logam Bobot dalam Makanan dan Minuman atau revisinya
8. Keputusan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan No. 03726/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Makanan dan Minuman atau revisinya.

Standar ini dirumuskan oleh Panitia Teknis 67 - 04 Makanan dan minuman. Standar ini telah dibahas melalui rapat teknis dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 19 Desember 2008 di Jakarta. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari konsumen, produsen, lembaga pengujian, Lembaga IPTEK dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 24 Juni 2009 sampai dengan tanggal 22 Agustus 2009 dengan hasil RASNI.

Tepung beras

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan istilah dan definisi, komposisi, syarat mutu, pengambilan contoh, dan cara uji tepung beras.

2 Istilah dan definisi

2.1

tepung beras

tepung yang diperoleh dari penggilingan atau penumbukan beras dari tanaman padi (*Oryza sativa* Linn)

3 Komposisi

3.1 Bahan baku utama

beras

3.2 Bahan tambahan pangan

bahan tambahan pangan yang diijinkan untuk tepung beras sesuai dengan ketentuan yang berlaku

4 Syarat mutu

Tabel 1 - Syarat mutu tepung beras

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bentuk	-	serbuk halus
1.2	Bau	-	normal
1.3	Warna	-	putih, khas tepung beras
2	Benda asing	-	tidak boleh ada
3	Serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak	-	tidak boleh ada
4	Jenis pati lain selain pati beras	-	tidak boleh ada
5	Kehalusan, lolos ayakan 80 mesh (b/b)	%	min. 90
6	Kadar air (b/b)	%	maks. 13
7	Kadar abu (b/b)	%	maks. 1,0
8	Belerang dioksida (SO ₂)	-	tidak boleh ada

Tabel 1 - (lanjutan)

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
9	Silikat (b/b)	%	maks. 0,1
10	pH	-	5 – 7
11	Cemaran logam		
11.1.	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,4
11.2.	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,3
11.3.	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,05
12	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,5
13	Cemaran mikroba		
13.1	Angka lempeng total	koloni/g	maks. 1×10^6
13.2	<i>Escherichia coli</i>	APM/g	maks. 10
13.3	<i>Bacillus cereus</i>	koloni/g	maks. 1×10^4
13.4	Kapang	koloni/g	maks. 1×10^4

5 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh sesuai Lampiran A.

6 Cara uji

Cara uji untuk tepung beras seperti di bawah ini:

- Persiapan contoh sesuai Lampiran B.1.
- Cara uji keadaan sesuai Lampiran B.2.
 - Cara uji bentuk sesuai Lampiran B.2.1.
 - Cara uji bau sesuai Lampiran B.2.2.
 - Cara uji warna sesuai Lampiran B.2.3.
- Cara uji benda asing sesuai Lampiran B.3.
- Cara uji serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak sesuai Lampiran B.4.
- Cara uji jenis pati lain selain pati beras sesuai Lampiran B.5.
- Cara uji kehalusan sesuai Lampiran B.6.
- Cara uji kadar air sesuai Lampiran B.7.
- Cara uji kadar abu sesuai Lampiran B.8.
- Cara uji belerang dioksida (SO₂) sesuai lampiran B.9.
- Cara uji silikat sesuai Lampiran B.10.
- Cara uji pH sesuai Lampiran B.11.
- Cara uji cemaran logam sesuai Lampiran B.12.
 - Cara uji kadmium (Cd) dan timbal (Pb) sesuai Lampiran B.12.1.
 - Cara uji merkuri (Hg) sesuai Lampiran B.12.2.
- Cara uji cemaran arsen (As) sesuai Lampiran B.13.
- Cara uji cemaran mikroba sesuai Lampiran B.14.
 - Persiapan dan homogenisasi contoh sesuai Lampiran B.14.1
 - Cara uji angka lempeng total sesuai Lampiran B.14.2.
 - Cara uji *Escherichia coli* sesuai Lampiran B.14.3.

- Cara uji *Bacillus cereus* sesuai Lampiran B.14.4.
- Cara uji kapang sesuai Lampiran B.14.5.

7 Syarat lulus uji

Produk dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu sesuai Pasal 4.

8 Higiene

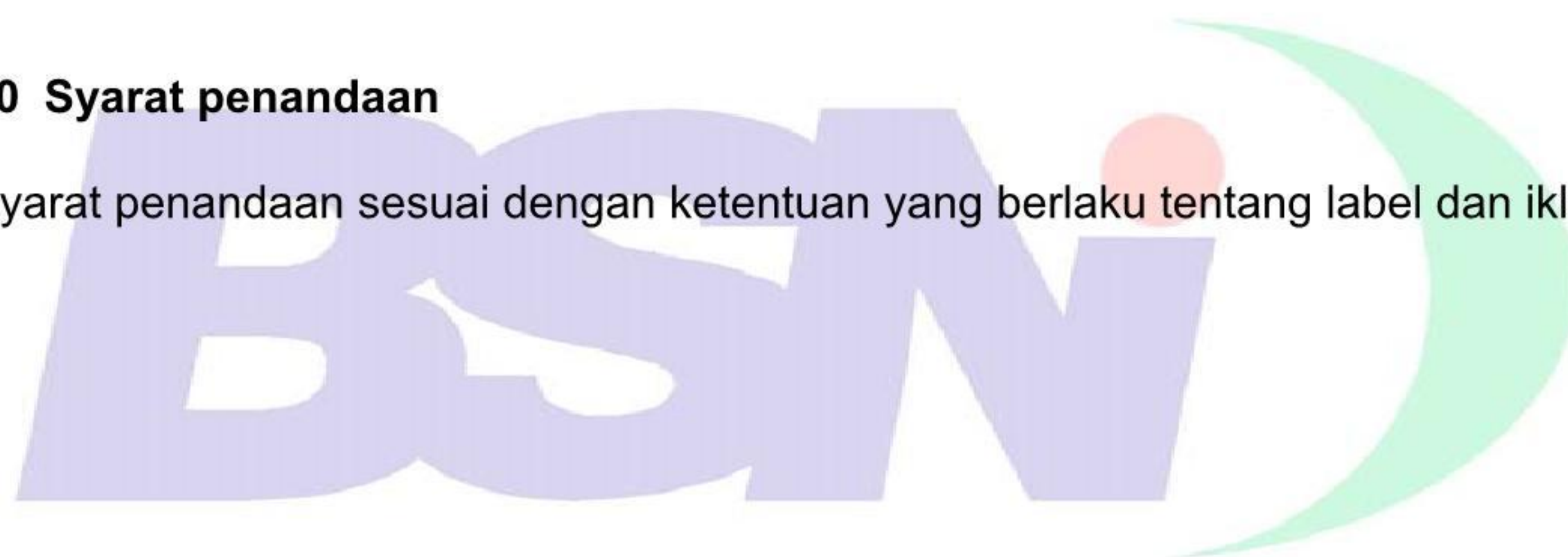
Cara memproduksi produk yang higienis termasuk cara penyiapan dan penanganannya sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik.

9 Pengemasan

Tepung beras dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan.

10 Syarat penandaan

Syarat penandaan sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang label dan iklan pangan.



Lampiran A (normatif)

Cara pengambilan contoh tepung beras

A.1 Prinsip

Pengambilan contoh tepung beras yang dikemas dengan cara melihat banyaknya unit contoh yang cacat pada AQL (*Acceptance Quality Level*) 6,5 dan contoh diambil secara acak.

A.2 Penerapan pengambilan contoh

A.2.1 Informasi yang diperlukan

Dalam menggunakan rancangan pengambilan contoh dalam A.3 diperlukan beberapa informasi sebagai berikut:

- a) Tingkat inspeksi;
- b) ukuran lot (N);
- c) ukuran kemasan terkecil (bobot bersih dalam g); dan
- d) ketentuan standar mengenai kualitas produk yang dikehendaki, misalnya penggolongan cacat dan jumlah cacat yang diperbolehkan dari sejumlah lot yang diperiksa.

A.2.2 Inspeksi

- a) Pemilihan tingkat inspeksi berdasarkan:
Tingkat inspeksi I, digunakan untuk pengambilan contoh normal (biasa).
Tingkat inspeksi II, digunakan untuk pengambilan contoh bila terjadi sanggahan terhadap hasil pengujian menurut tingkat inspeksi I, atau bila diperlukan hasil pengujian yang lebih menyakinkan;
- b) tentukan ukuran lot (N), misalkan jumlah kemasan terkecil tepung beras,
- c) tentukan ukuran contoh (n) yang akan diambil dari suatu lot yang diinspeksi, yang didasarkan pada ukuran lot, ukuran kemasan terkecil, dan tingkat inspeksi. Penentuan ukuran contoh dapat dilihat pada A.3,
- d) ambil secara acak sejumlah ukuran contoh (n) yang diperlukan dari lot,
- e) uji produk berdasarkan standar. Identifikasikan setiap kemasan atau unit contoh yang tidak memenuhi spesifikasi yang terdapat dalam persyaratan standar dan dinyatakan cacat berdasarkan penggolongan cacat yang terdapat dalam standar,
- f) gunakan rancangan pengambilan contoh pada A.3, dan
- g) nyatakan bahwa lot diterima jika cacat sama atau kurang dari jumlah cacat yang diperbolehkan (c) dan lot ditolak jika cacat melebihi jumlah cacat yang diperbolehkan (c).

A.2.3 Penerapan rancangan pengambilan contoh

A.2.3.1 Tingkat inspeksi I

Misalnya lot terdiri atas 1.000 karton yang berisi kemasan berukuran 20 x 500 g setiap kartonnya. Keputusan diambil menggunakan Tingkat Inspeksi I karena produk tersebut belum pernah diuji dan belum pernah mendapat sanggahan mengenai kualitasnya.

- a) Ukuran lot (N) : 1.000 x 20 atau 20.000 unit

- b) ukuran kemasan : 500 g
- c) tingkat inspeksi : I (lihat rancangan pengambilan contoh 1, A.3.1)
- d) ukuran contoh (n) : 13
- e) jumlah maks. cacat yang diterima (c) : 2

Lot diterima apabila jumlah cacat yang ditemukan dari 13 contoh yang diuji sama atau kurang dari 2 dan lot ditolak apabila jumlah cacat yang ditemukan dari 13 kemasan yang diuji lebih besar dari 2.

A.2.3.2 Tingkat inspeksi II

Bila hasil pengujian pertama mendapat sanggahan (A.2.3.1) maka harus dilakukan pemeriksaan ulangan terhadap lot tersebut dengan ukuran contoh yang lebih banyak sesuai dengan tingkat inspeksi II.

- a) Ukuran lot (N) : 1.000 x 20 atau 20.000 unit
- b) ukuran kemasan : 500 g
- c) tingkat inspeksi : II (lihat rancangan pengambilan contoh 2, A.3.2)
- d) ukuran contoh (n) : 21
- e) jumlah maks. cacat yang diterima (c) : 3

A.2.4 Catatan mengenai ukuran contoh

Tidak perlu membatasi ukuran contoh sebagai minimum untuk ukuran lot dan tingkat inspeksi yang tepat. Dalam semua kasus, contoh yang lebih besar dapat dipilih. Dalam contoh A.2.3.2 perkiraan yang lebih dipercaya mengenai mutu lot dapat dibuat dengan mengambil contoh sebanyak 29 atau 48 dan menggunakan jumlah ketentuan, yang diterima sebanyak 4 dan 6 berturut-turut.

A.3 Rancangan pengambilan contoh

A.3.1 Rancangan pengambilan contoh 1 (Tingkat inspeksi I, AQL = 6,5)

Tabel A.1 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih sama atau kurang dari 1 kg

Ukuran lot (N)	Ukuran contoh (n)	Jumlah maks. cacat yang diterima (c)
4.800 atau kurang	6	1
4.801 – 24.000	13	2
24.001 – 48.000	21	3
48.001 – 84.000	29	4
84.001 – 144.000	48	6
144.001 – 240.000	84	9
Lebih dari 240.000	126	13

**Tabel A.2 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 1 kg
tapi tidak lebih dari 4,5 kg**

Ukuran lot (N)	Ukuran contoh (n)	Jumlah maks. cacat yang diterima (c)
2.400 atau kurang	6	1
2.401 – 15.000	13	2
15.001 – 24.000	21	3
24.001 – 42.000	29	4
42.001 – 72.000	48	6
72.001 – 120.000	84	9
Lebih dari 120.000	126	13

Tabel A.3 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 4,5 kg

Ukuran lot (N)	Ukuran contoh (n)	Jumlah maks. cacat yang diterima (c)
600 atau kurang	6	1
601 – 2.000	13	2
2.001 – 7.200	21	3
7.201 – 15.000	29	4
15.001 – 24.000	48	6
24.001 – 42.000	84	9
Lebih dari 42.000	126	13

A.3.2 Rancangan pengambilan contoh 2 (Tingkat inspeksi II, AQL = 6,5)

Tabel A.4 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih sama atau kurang dari 1 kg

Ukuran lot (N)	Ukuran contoh (n)	Jumlah maks. cacat yang diterima (c)
4.800 atau kurang	13	2
4.801 – 24.000	21	3
24.001 – 48.000	29	4
48.001 – 84.000	48	6
84.001 – 144.000	84	9
144.001 – 240.000	126	13
Lebih dari 240.000	200	19

**Tabel A.5 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 1 kg
tapi tidak lebih dari 4,5 kg**

Ukuran lot (N)	Ukuran contoh (n)	Jumlah maks. cacat yang diterima (c)
2.400 atau kurang	13	2
2.401 – 15.000	21	3
15.001 – 24.000	29	4
24.001 – 42.000	48	6
42.001 – 72.000	84	9
72.001 – 120.000	126	13
Lebih dari 120.000	200	19

Tabel A.6 - Nilai N, n dan c untuk bobot bersih lebih dari 4,5 kg

Ukuran lot (N)	Ukuran contoh (n)	Jumlah maks. cacat yang diterima (c)
600 atau kurang	13	2
601 – 2.000	21	3
2.001 – 7.200	29	4
7.201 – 15.000	48	6
15.001 – 24.000	84	9
24.001 – 42.000	126	13
Lebih dari 42.000	200	19

Lampiran B
(normatif)

Cara uji tepung beras

A.4 Persiapan contoh

Persiapan contoh terdiri atas persiapan contoh untuk uji mikrobiologi, uji organoleptik, dan analisis kimia. Pengambilan contoh untuk uji mikrobiologi dilakukan pertama, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan contoh untuk uji organoleptik dan analisis kimia.

A.4.1 Persiapan contoh untuk uji mikrobiologi

Buka kemasan tepung beras secara aseptik dan ambil contoh tepung beras sebanyak 400 g dan tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan steril.

A.4.2 Persiapan contoh untuk uji organoleptik

Buka kemasan tepung beras dan ambil contoh tepung beras sebanyak lebih kurang 100 g dan tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.4.3 Persiapan contoh untuk analisis kimia

Buka kemasan tepung beras dan ambil contoh tepung beras sebanyak 500 g kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.5 Keadaan

A.5.1 Bentuk

A.5.1.1 Prinsip

Pengamatan contoh uji secara visual dengan indera penglihatan dan diraba dengan indera peraba.

A.5.1.2 Cara kerja

- Taburkan contoh uji secukupnya di atas gelas arloji yang bersih dan kering,
- amati dan raba contoh uji tersebut untuk mengetahui bentuk contoh uji, dan
- lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.5.1.3 Cara menyatakan hasil

- Jika teraba serbuk halus, maka hasil dinyatakan "serbuk halus"; dan
- jika teraba selain serbuk halus, maka hasil dinyatakan sesuai dengan pengamatan.

A.5.2 Bau

A.5.2.1 Prinsip

Melakukan analisis contoh uji secara organoleptik dengan menggunakan indera penciuman.

A.5.2.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering,
- b) cium contoh uji untuk mengetahui baunya, dan
- c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.5.2.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tercium bau khas tepung beras, maka hasil dinyatakan "normal"; dan
- b) jika tercium selain bau khas tepung beras, maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.5.3 Warna

A.5.3.1 Prinsip

Melakukan analisis terhadap contoh uji secara organoleptik dengan menggunakan indera penglihatan.

A.5.3.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering,
- b) amati warna contoh uji, dan
- c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.5.3.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika terlihat warna putih khas tepung beras, maka hasil dinyatakan "normal", dan
- b) jika terlihat selain warna putih khas tepung beras, maka disebutkan warna yang diamati dan hasil dinyatakan "tidak normal".

A.6 Benda asing

A.6.1 Prinsip

Contoh uji diamati secara visual dengan indera penglihatan.

A.6.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji sebanyak 50 g dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering,
- b) amati dan raba contoh uji tersebut untuk mengetahui bentuk contoh uji apakah mengandung benda lain selain tepung beras misalnya tanah, pasir, batu-batuan, dan lain-lain, dan
- c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.6.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tidak terlihat dan teraba benda asing, maka hasil dinyatakan "tidak ada", dan
- b) jika terlihat dan teraba benda asing, maka disebutkan benda asing yang diamati dan hasil dinyatakan "ada".

A.7 Serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak

A.7.1 Prinsip

Contoh uji diamati secara visual dengan menggunakan mikroskop atau kaca pembesar.

A.7.2 Peralatan

- a) Mikroskop atau kaca pembesar;
- b) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- c) gelas piala 250 ml;
- d) corong Buchner; dan
- e) kertas saring.

A.7.3 Pereaksi

- a) Kloroform (CHCl_3); dan
- b) tetra klorida (CCl_4);

A.7.4 Cara kerja

- a) Timbang 50 g contoh uji ke dalam gelas piala 250 ml,
- b) tambah CHCl_3 sampai 1 cm di atas permukaan contoh uji, biarkan mengendap minimal selama 30 menit,
- c) aduk bagian yang mengambang di atas permukaan lapisan beberapa kali,
- d) tuang CHCl_3 dan bagian yang mengambang ke dalam corong Buchner (hati-hati jangan sampai endapan yang di bagian bawah terbawa),
- e) tambah CCl_4 sebanyak volume CHCl_3 ,
- f) biarkan mengendap lagi dan tuangkan lagi seperti di atas,
- g) ulangi pengendap-tuangan dengan campuran CHCl_3 dan CCl_4 sampai bagian yang mengambang tinggal sedikit (hati-hati jangan sampai bagian serangga yang ada ikut terbuang),
- h) cuci endapan dalam gelas piala dengan CHCl_3 atau CCl_4 melalui kertas saring, dan
- i) amati kertas saring menggunakan mikroskop atau kaca pembesar.

A.7.5 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tidak terlihat serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak, maka hasil dinyatakan "tidak ada"; dan
- b) jika terlihat serangga dalam semua bentuk stadia dan potongan-potongannya yang tampak, maka hasil dinyatakan "ada".

A.8 Jenis pati lain selain pati beras

A.8.1 Prinsip

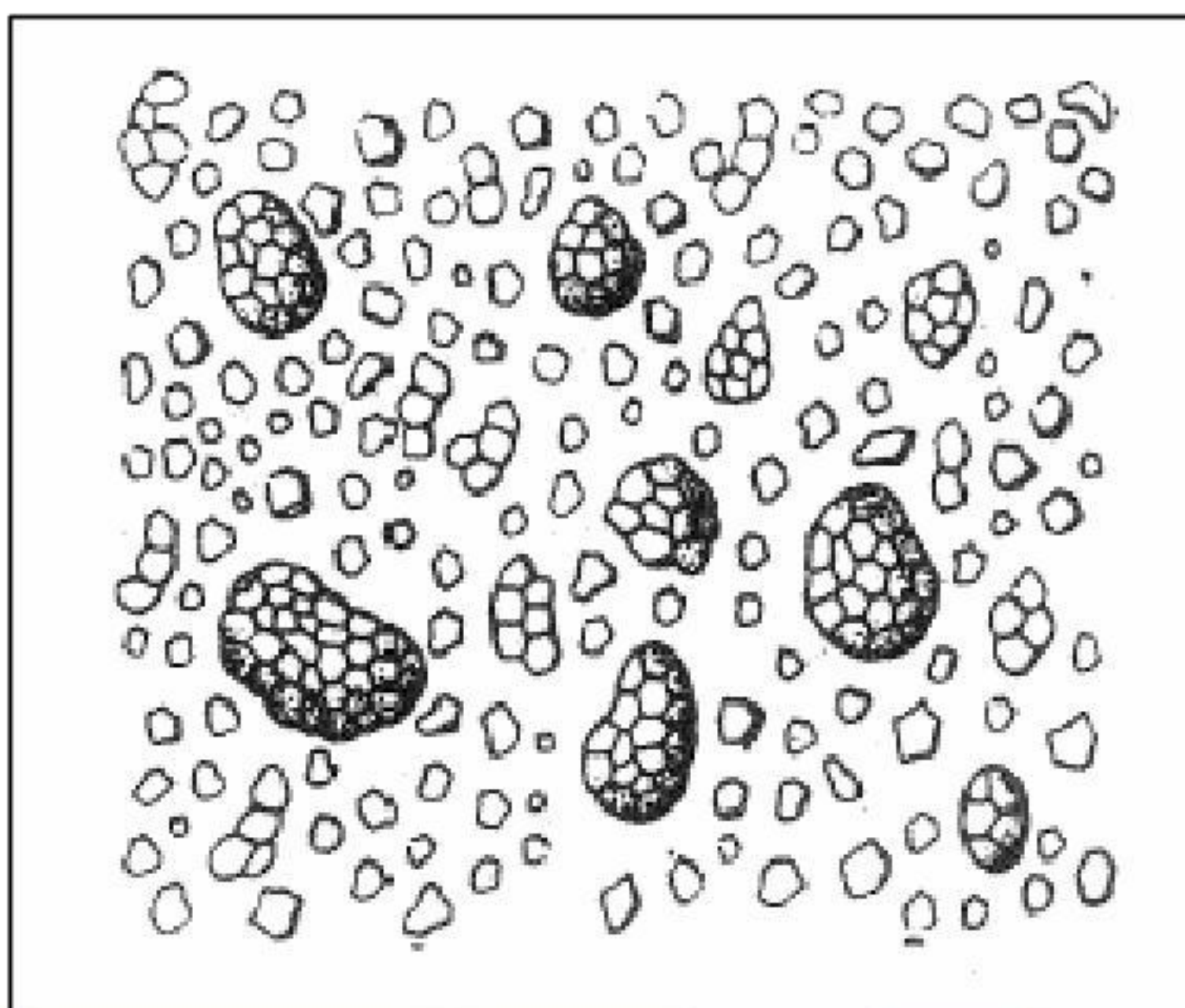
Membandingkan bentuk granula pati tepung contoh uji dengan bentuk granula pati tepung beras.

A.8.2 Peralatan

- a) Mikroskop dengan pembesaran 300 kali sampai dengan 500 kali.
- b) Kaca obyek; dan
- c) kaca penutup.

A.8.3 Cara kerja

- Timbang 1 g contoh uji ke dalam gelas piala 100 ml dan tambahkan 50 ml air,
- aduk menggunakan batang pengaduk hingga membentuk suspensi homogen,
- tempatkan beberapa tetes larutan di atas kaca obyek yang telah diletakkan di mikroskop,
- tutup dengan kaca penutup secara hati-hati dan jangan sampai terbentuk gelembung udara,
- kelebihan larutan suspensi pada kaca objek dibersihkan dengan kertas saring, dan
- amati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali.



Gambar B.1 - Tepung beras (*Oryza sativa* Linn) pada pembesaran 400 kali

B.5.4 Cara menyatakan hasil

- Jika tidak terdapat jenis pati lain, maka hasil dinyatakan "tidak ada"; dan
- jika terdapat jenis pati lain, maka hasil dinyatakan "ada".

A.9 Kehalusan

A.9.1 Prinsip

Pengukuran derajat kehalusan contoh uji dengan menggunakan ayakan ukuran 80 mesh.

A.9.2 Peralatan

- Ayakan dan piring/penampung dengan ukuran 80 mesh;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg; dan
- alat penggoyang ayakan.

A.9.3 Cara kerja

- Timbang ($50 \pm 0,1$) g contoh uji ke dalam ayakan yang dipasang pada alat penggoyang dan goyangkan selama 5 menit (W_1), dan
- timbang bagian yang tertinggal dalam ayakan (W_2)

A.9.4 Perhitungan

$$\text{Kehalusan (\%)} = 100 - \left(\frac{W_2}{W_1} \times 100 \right)$$

Keterangan:

W_1 adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g); dan

W_2 adalah bobot yang tertinggal dalam ayakan, dinyatakan dalam gram (g).

A.10 Kadar air

A.10.1 Prinsip

Kadar air dihitung berdasarkan bobot yang hilang selama pemanasan dalam oven pada suhu $(130 \pm 3) ^\circ\text{C}$.

A.10.2 Peralatan

- Oven terkalibrasi dengan ketelitian $1 ^\circ\text{C}$;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- desikator yang berisi desikan; dan
- pinggan nikel, platina atau aluminium bertutup.

A.10.3 Cara kerja

- Panaskan pinggan beserta tutupnya dalam oven pada suhu $(130 \pm 3) ^\circ\text{C}$ selama lebih kurang satu jam dan dinginkan dalam desikator selama 20 menit sampai dengan 30 menit, kemudian timbang dengan neraca analitik (pinggan dan tutupnya) (W_0),
- masukkan 2 g contoh ke dalam pinggan, tutup, dan timbang (W_1),
- panaskan pinggan yang berisi contoh tersebut dalam keadaan terbuka dengan meletakkan tutup pinggan disamping pinggan di dalam oven pada suhu $(130 \pm 3) ^\circ\text{C}$ selama 1 (satu) jam setelah suhu oven $(130 \pm 3) ^\circ\text{C}$,
- tutup pinggan ketika masih di dalam oven, pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 20 menit sampai dengan 30 menit sehingga suhunya sama dengan suhu ruang kemudian timbang (W_2),
- lakukan pekerjaan duplo, dan
- hitung kadar air dalam contoh.

A.10.4 Perhitungan

$$\text{Kadar air (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \right) \times 100 \%$$

Keterangan:

W_0 adalah bobot pinggan kosong dan tutupnya, dinyatakan dalam gram (g);

W_1 adalah bobot pinggan, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g); dan

W_2 adalah bobot pinggan, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g).

A.10.5 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5 % dari nilai rata-rata hasil kadar air. Jika kisaran lebih besar dari 5 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.11 Kadar abu

A.11.1 Prinsip

Kadar abu dihitung berdasarkan bobot abu yang terbentuk selama pembakaran dalam tanur pada suhu 550 °C sampai terbentuk abu berwarna putih.

A.11.2 Peralatan

- Tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- desikator yang berisi desikan; dan
- cawan platina, kuarsa atau porselen yang berukuran 50 ml sampai dengan 100 ml.

A.11.3 Cara kerja

- Panaskan cawan dalam tanur pada suhu 550 °C selama kurang lebih satu jam dan dinginkan dalam desikator selama 30 menit sehingga suhunya sama dengan suhu ruang kemudian timbang dengan neraca analitik (W_0),
- masukkan 3 g sampai dengan 5 g contoh ke dalam cawan dan timbang (W_1),
- tempatkan cawan yang berisi contoh tersebut dalam tanur pada suhu 550 °C sampai terbentuk abu berwarna putih dan diperoleh bobot tetap,
- pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 30 menit sehingga suhunya sama dengan suhu ruang kemudian timbang (W_2),
- lakukan pekerjaan duplo, dan
- hitung kadar abu dalam contoh.

A.11.4 Perhitungan

$$\text{Kadar abu (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \right) \times 100 \%$$

Keterangan:

W_0 adalah bobot cawan kosong, dinyatakan dalam gram (g);

W_1 adalah bobot cawan dan contoh sebelum diabukan, dinyatakan dalam gram (g); dan

W_2 adalah bobot cawan dan contoh setelah diabukan, dinyatakan dalam gram (g).

A.11.5 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5 % dari nilai rata-rata hasil kadar abu. Jika kisaran lebih besar dari 5 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.12 Belerang dioksida (SO₂)

Metode pengujian belerang dioksida dapat dilakukan dengan metode Monier-Williams atau metode Iodimetri

Metode Monier-Williams

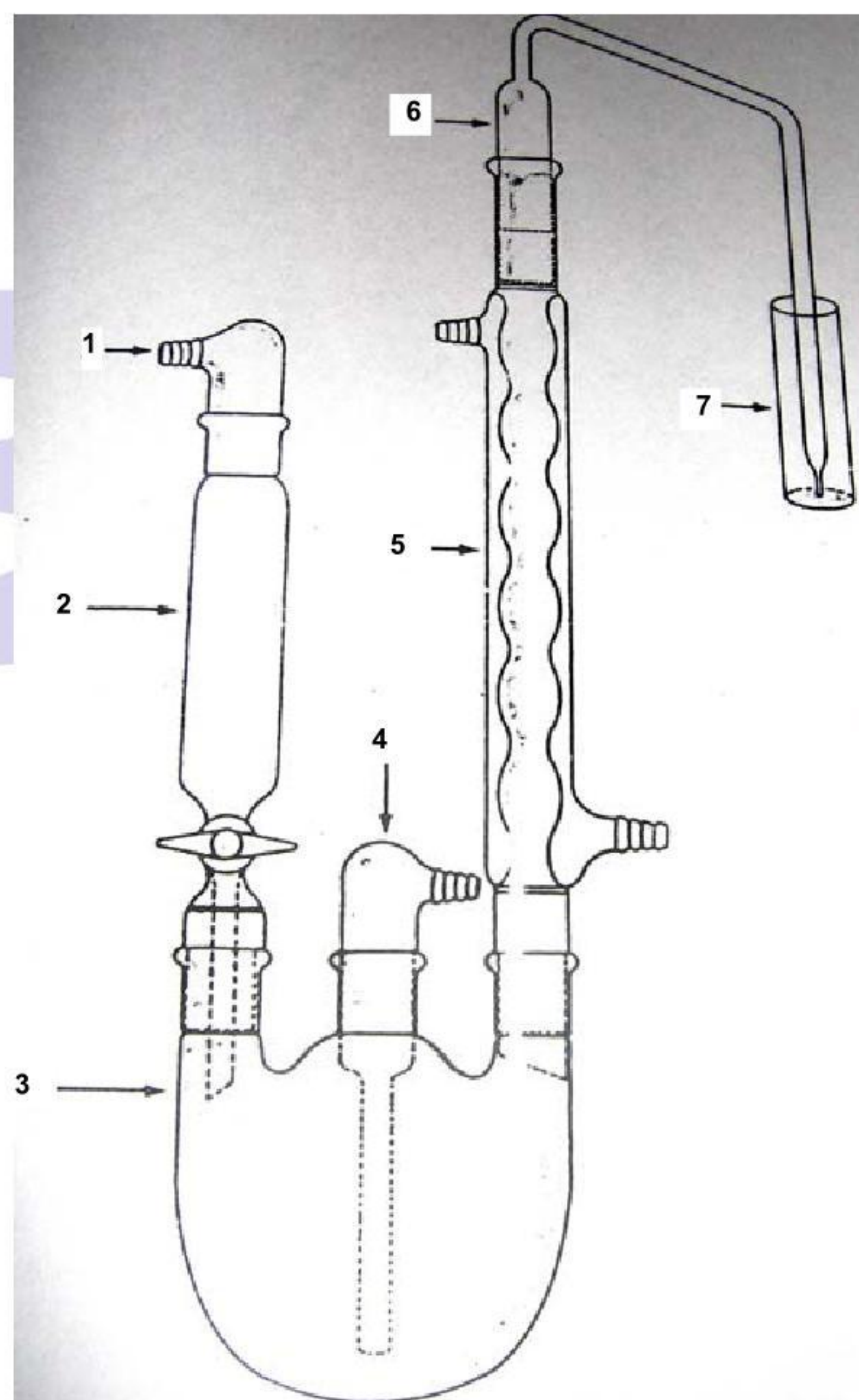
B.9.1.1 Prinsip

Contoh dipanaskan dengan merefluks menggunakan HCl untuk mengubah sulfit menjadi SO₂. Aliran gas NO₂ yang diberikan dibawah permukaan larutan yang direfluks menyapu

SO₂ melalui kondensor, dan melalui *bubbler* yang disambungkan dengan kondensor, dengan penambahan 3% larutan H₂O₂, SO₂ dioksidasi menjadi H₂SO₄. Kadar sulfit berhubungan langsung dengan pembentukan H₂SO₄, yang ditentukan dengan titrasi menggunakan larutan NaOH yang telah distandarkan. Untuk verifikasi, sulfat dapat ditentukan secara gravimetri sebagai BaSO₄.

A.12.1 Peralatan

- Peralatan Monier-Williams yang telah dimodifikasi, seperti pada Gambar B.2;
- heating mantle*;
- oven terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- food processor* atau blender;
- buret 10 ml;
- erlenmeyer;
- gelas piala; dan
- cawan *gooch*.



Keterangan gambar:

1. adaptor inlet;
2. corong pemisah;
3. labu destilasi dasar bulat;
4. tabung pemasukan gas;
5. kondensor *allihn*;
6. *bubbler*;
7. bejana.

Gambar B.2 - Peralatan Monier-Williams

A.12.2 Pereaksi

- Asam klorida, HCl 4M;
larutkan 30 ml HCl ke dalam 60 ml air de-ion.
- indikator metil merah;
larutkan 250 mg metil merah dalam 100 ml etanol.
- titran yang distandardisasi, 0,010M NaOH;
- larutan H₂O₂ 3 %;
larutkan 3 ml H₂O₂ 30 % menjadi 30 ml dengan air de-ion dan periksa terhadap kotoran-kotoran sulfat.
- gas nitrogen murni;
- pyrogallol*;
- larutan kalium hidroksida, KOH;
larutkan 65 g KOH ke dalam 85 ml H₂O.
- etanol 95 %; dan
- larutan barium klorida, BaCl₂ 10 %.

A.12.3 Cara kerja

A.12.3.1 Persiapan larutan contoh

- Siapkan contoh dengan memindahkan contoh yang telah ditimbang secara tepat (50 g atau sejumlah yang diperkirakan mengandung 500 µg sampai dengan 1500 µg SO₂) (W) ke dalam *food processor* atau blender,
- Tambahkan 100 ml etanol dan giling campuran hingga merata, teruskan penggilingan hingga potongan kecil contoh dapat melewati sambungan labu destilasi,
- Untuk contoh cairan dapat mencampur sejumlah contoh (50 g atau sejumlah yang diperkirakan mengandung 500 µg sampai dengan 1500 µg SO₂) langsung dengan 100 ml etanol.

A.12.3.2 Persiapan sistem peralatan

- Murnikan larutan nitrogen (untuk mengusir oksigen yang masih ada),
- tambahkan 4,5 g *pyrogallol* ke dalam botol pencuci gas pada alat Monier-Williams,
- alirkan gas nitrogen selama 2 sampai dengan 3 menit,
- tambahkan larutan KOH ke dalam botol pencuci gas sedangkan atmosfer N₂ tetap terjaga,
- matikan nitrogen dan hubungkan botol pencuci gas kepada labu destilasi,
- siapkan larutan pencuci gas segar setiap hari, atau gunakan gas nitrogen murni tanpa perlu dilakukan pemurnian,
- pasang sisa alat Monier-Williams seperti pada Gambar B.2 dan tempatkan *heating mantle* dibawah labu destilasi (3),
- tambahkan 400 ml H₂O ke dalam labu destilasi,
- tutup keran corong pemisah (2) dan tambahkan 90 ml HCl 4M ke dalam corong pemisah,
- alirkan gas N₂ pada (200 ± 10) ml/menit dan juga alirkan air pendingin ke kondensor,
- tambahkan 30 ml H₂O₂ 3 % yang telah dititrasi menjadi kuning dengan 0,010M NaOH pada bejana (7),
- setelah proses berjalan selama 15 menit dan air sudah deoksigenisasi secara merata, masukkan larutan contoh yang telah dipersiapkan.

A.12.3.3 Penyulingan contoh

- Angkat corong pemisah (2) dan pindahkan larutan contoh ke dalam labu destilasi,
- seka sambungan dengan tisu laboratorium, berikan segera pelumas pada sambungan corong pemisah dan pasang kembali ke labu destilasi,

- c) alirkan kembali nitrogen melalui larutan H_2O_2 3 %, periksa setiap sambungan untuk memastikan tidak ada kebocoran,
- d) gunakan bulb karet dengan pompa untuk memberikan tekanan diatas HCl pada corong pemisah,
- e) buka keran corong pemisah dan alirkan HCl ke dalam labu destilasi, teruskan memberikan tekanan yang cukup terhadap larutan HCl agar dapat memasuki labu destilasi (apabila diperlukan, keran dapat dibuka tutup untuk memberikan tekanan yang cukup),
- f) tutup keran corong pemisah sebelum 2 ml sampai dengan 3 ml terakhir untuk mencegah kehilangan SO_2 ke dalam corong pemisah,
- g) panaskan *heating mantle*, atur panas sampai terjadi 80 tetes/menit sampai dengan 90 tetes/menit kondensat ke dalam labu destilasi dari kondensor,
- h) didihkan sampai 1,7 jam (1 jam 42 menit) dan angkat bejana (7),
- i) titrasi secepatnya isi bejana (7) dengan 0,010 M NaOH (M) dengan titik akhir kuning yang muncul lebih dari 20 detik dan catat volume titran (V_1),
- j) lanjutkan dengan penentuan secara gravimetri apabila diperlukan. Bilas isi bejana (7) ke dalam gelas piala 400 ml,
- k) tambahkan 4 tetes 1M HCl dan larutan BaCl_2 10 % yang telah disaring berlebih. Biarkan campuran semalam,
- l) cuci endapan (W) dengan dekantasi sebanyak 3 kali dengan menggunakan air panas ke dalam cawan gooch yang telah ditimbang sebelumnya,
- m) cuci dengan 20 ml alkohol dan 20 ml eter, kemudian keringkan pada 105 °C sampai dengan 110 °C dan catat bobotnya,
- n) tetapkan blanko-blanko pada pereaksi-pereaksi untuk kedua prosedur titrasi dan gravimetri dan koreksi hasilnya (V_2).

A.12.4 Perhitungan

a) Titrasi

$$\text{Kadar belerang dioksida (SO}_2\text{), (}\mu\text{gg/g (ppm))} = \frac{32,03 \times V \times M \times 1000}{W}$$

b) Gravimetri

$$\text{Kadar belerang dioksida (SO}_2\text{), (}\mu\text{gg/g (ppm))} = \frac{\text{mg BaSO}_4 \times 274,46}{W}$$

Keterangan:

32,03	adalah miliekuivalen bobot SO_2 ;
V	adalah volume NaOH, ($V_1 - V_2$), dinyatakan dalam mililiter (ml);
M	adalah molaritas NaOH, dinyatakan dalam mol per liter (mol/l);
1000	adalah faktor untuk mengubah miliekuivalen menjadi mikroekivalen
W	adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
mg BaSO_4	adalah bobot BaSO_4 ; dan
274,46	adalah miliekuivalen bobot BaSO_4 .

A.12.5 Cara menyatakan hasil

- a) Jika hasil perhitungan < 1,0 mg/kg, maka hasil dinyatakan "tidak ada"; dan
- b) jika hasil perhitungan > 1,0 mg/kg, maka hasil dinyatakan "ada".

A.12.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kadar belerang dioksida (SO_2). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka analisis harus diulang kembali.

Metode Iodimetri

A.13 Silikat

A.13.1 Prinsip

Silikat dengan asam fluorida (HF) membentuk silikon fluorida yang hilang bila dipijarkan.

A.13.2 Peralatan

- Tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- penangas;
- pembakar; dan
- cawan platina.

A.13.3 Pereaksi

- Air suling, H₂O;
- asam sulfat p.a, H₂SO₄ p.a (1+1); dan
- asam fluorida, HF.

A.13.4 Cara kerja

- Timbang 2 g sampai dengan 3 g contoh tepung beras (W) dengan teliti ke dalam cawan platina,
- arangkan diatas pembakar dengan hati-hati,
- abukan di dalam tanur 1150 °C sampai dengan 1200 °C,
- biarkan di dalam desikator sampai dingin kemudian timbang (W₁),
- tambahkan 1 ml H₂O dan 2 tetes H₂SO₄ p.a, dan 10 ml HF,
- panaskan di atas penangas sampai kering (di ruang asam),
- panaskan selama 2 menit pada tanur suhu 1050 °C sampai dengan 1100 °C,
- dinginkan dalam desikator dan timbang (W₂).

A.13.5 Perhitungan

$$\text{Kadar silikat (SiO}_2\text{), (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W} \right) \times 100 \%$$

Keterangan:

W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);

W₁ adalah bobot abu sebelum ditambah HF, dinyatakan dalam gram (g); dan

W₂ adalah bobot abu setelah ditambah HF, dinyatakan dalam gram (g).

A.13.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 10 % dari nilai rata-rata hasil kadar silikat (SiO₂). Jika kisaran lebih besar dari 10 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.14 pH

A.14.1 Prinsip

Perhitungan pH larutan menggunakan pH meter.

A.14.2 Peralatan

- a) pH meter;
- b) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg; dan
- c) gelas piala 250 ml.

A.14.3 Cara kerja

- a) Timbang 10 g contoh tepung beras dengan teliti ke dalam Erlenmeyer 250 ml,
- b) tambahkan 100 ml air yang sudah dimasak pada suhu 25 °C sambil diaduk hingga homogen dan tidak terbentuk gumpalan,
- c) diamkan selama 30 menit dan sesekali aduk,
- d) biarkan selama 10 menit atau lebih dan tuangkan supernatan ke dalam gelas piala 250 ml, dan
- e) segera ukur pH larutan menggunakan pH Meter yang telah di standardisasi dengan larutan bufer 4,01 dan pH 9,18 masing-masing pada suhu 25 °C.

A.14.4 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 10 % dari nilai rata-rata hasil pH. Jika kisaran lebih besar dari 10%, maka analisis harus diulang kembali.

A.15 Cemarkan logam

A.15.1 Penetapan kadmium (Cd) dan timbal (Pb)

A.15.1.1 Prinsip

Destruksi contoh dengan cara pengabuan kering pada suhu 450 °C yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang maksimal 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb.

A.15.1.2 Peralatan

- a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Cd dan Pb) terkalibrasi (sebaiknya menggunakan SSA tungku grafit);
- b) tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- c) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) penangas listrik;
- e) penangas air;
- f) pipet ukur berskala 0,05 ml atau mikro buret terkalibrasi;
- g) labu ukur 50 ml, 100 ml, dan 1000 ml, terkalibrasi;
- h) gelas ukur kapasitas 10 ml;
- i) gelas piala 250 ml;
- j) cawan porselin/platina/kwarsa dengan kapasitas 50 ml sampai dengan 100 ml;
- k) wadah *polypropylene*; dan
- l) kertas saring tidak berabu dengan spesifikasi *particle retention liquid* sebesar 20-25 µgm.

A.15.1.3 Pereaksi

- a) Larutan asam nitrat, HNO₃ pekat (65 %, Bj 1,4);
- b) larutan asam klorida, HCl pekat (37 %, Bj 1,19);
- c) larutan asam nitrat, HNO₃ 0,1 N;

- encerkan 7 ml HNO_3 65 % dengan air suling dalam labu ukur 1000 ml dan encerkan sampai tanda garis.
- d) larutan asam klorida, HCl 6 N;
encerkan 500 ml HCl 37 % dengan air suling dalam labu ukur 1000 ml dan encerkan sampai tanda garis.
 - e) larutan baku 1000 $\mu\text{g/ml}$ Cd;
larutkan 1,000 g Cd dengan 7 ml HNO_3 pekat dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Cd 1000 $\mu\text{g/ml}$ siap pakai.
 - f) larutan baku 200 $\mu\text{g/ml}$ Cd;
pipet 10 ml larutan baku 1000 $\mu\text{g/ml}$ Cd ke dalam labu ukur 50 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 $\mu\text{g/ml}$ Cd.
 - g) larutan baku 20 $\mu\text{g/ml}$ Cd;
pipet 10 ml larutan baku 200 $\mu\text{g/ml}$ Cd ke dalam labu ukur 100 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$ Cd.
 - h) larutan baku kerja Cd;
pipet ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing sebanyak 0 ml, 0,5 ml, 1 ml; 2 ml; 4 ml; 7 ml dan 9 ml larutan baku 20 $\mu\text{g/ml}$ kemudian tambahkan 5 ml larutan HNO_3 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 $\mu\text{g/ml}$; 0,1 $\mu\text{g/ml}$; 0,2 $\mu\text{g/ml}$; 0,4 $\mu\text{g/ml}$; 0,8 $\mu\text{g/ml}$; 1,4 $\mu\text{g/ml}$ dan 1,8 $\mu\text{g/ml}$ Cd.
 - i) larutan baku 1000 $\mu\text{g/ml}$ Pb;
larutkan 1,000 g Pb dengan 7 ml HNO_3 pekat dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Pb 1000 $\mu\text{g/ml}$ siap pakai.
 - j) larutan baku 50 $\mu\text{g/ml}$ Pb; dan
pipet 5,0 ml larutan baku 1000 $\mu\text{g/ml}$ Pb ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Pb 50 $\mu\text{g/ml}$.
 - k) larutan baku kerja Pb;
pipet ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing sebanyak 0 ml, 0,2 ml; 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml dan 4 ml larutan baku 50 $\mu\text{g/ml}$ kemudian tambahkan 5 ml larutan HNO_3 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 $\mu\text{g/ml}$; 0,1 $\mu\text{g/ml}$; 0,25 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 $\mu\text{g/ml}$; 1,0 $\mu\text{g/ml}$; 1,5 $\mu\text{g/ml}$ dan 2,0 $\mu\text{g/ml}$ Pb.

A.15.1.4 Cara kerja

- a) Timbang 10 g sampai dengan 20 g contoh dengan teliti dalam cawan porselin/ platina/ kuarsa (m),
- b) tempatkan cawan berisi contoh uji di atas penangas listrik dan panaskan secara bertahap sampai contoh uji tidak berasap lagi,
- c) lanjutkan pengabuan dalam tanur pada suhu $(450 \pm 5) ^\circ\text{C}$ sampai abu berwarna putih, bebas dari karbon,
- d) apabila abu belum bebas dari karbon yang ditandai dengan warna keabu-abuan, basahkan dengan beberapa tetes air dan tambahkan tetes demi tetes HNO_3 pekat kira-kira 0,5 ml sampai dengan 3 ml,
- e) keringkan cawan di atas penangas listrik dan masukkan kembali ke dalam tanur pada suhu $450 ^\circ\text{C}$ kemudian lanjutkan pemanasan sampai abu menjadi putih. Penambahan HNO_3 pekat dapat diulangi apabila abu masih berwarna keabu-abuan,
- f) larutkan abu berwarna putih dalam 5 ml HCl 6 N, sambil dipanaskan di atas penangas listrik atau penangas air sampai kering, kemudian larutkan dengan HNO_3 0,1 N dan masukkan ke dalam labu ukur 50 ml kemudian tepatkan hingga tanda garis dengan air

- suling (V), jika perlu, saring larutan menggunakan kertas saring, ke dalam wadah *polypropylene*,
- g) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh,
 - h) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimum sekitar 228,8 nm untuk Cd dan 283 nm untuk Pb,
 - i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y,
 - j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C), dan
 - k) hitung kandungan logam dalam contoh.

A.15.1.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan logam, (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/ml}$);
 V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (ml); dan
 m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.15.1.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan logam. Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.15.2 Penetapan merkuri (Hg)

A.15.2.1 Prinsip

Reaksi antara senyawa raksa dengan NaBH_4 atau SnCl_2 dalam keadaan asam akan membentuk gas atomik Hg. Jumlah Hg yang terbentuk sebanding dengan absorbans Hg yang dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) tanpa nyala pada panjang gelombang maksimum 253,7 nm.

A.15.2.2 Peralatan

- a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi lampu katoda Hg dan generator uap hidrida ("HVG");
- b) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- c) penangas listrik;
- d) labu destruksi 250 ml berdasar bulat;
- e) pendingin terbuat dari borosilikat, diameter 12 mm sampai dengan 18 mm, tinggi 400 mm diisi dengan cincin Raschig setinggi 100 mm, dan dilapisi dengan batu didih berdiameter 4 mm di atas cincin setinggi 20 mm;
- f) labu ukur 100 ml, 500 ml, dan 1000 ml terkalibrasi;
- g) pipet ukur berskala 0,05 ml atau mikro buret terkalibrasi; dan
- h) gelas ukur 25 ml.

A.15.2.3 Pereaksi

- a) Asam sulfat, H_2SO_4 9 M;
- b) asam nitrat, HNO_3 7 M;

- c) batu didih;
- d) campuran $\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4$ (1:1);
- e) hidrogen peroksida, H_2O_2 ;
- f) larutan Natrium molibdat 2 %;
- g) larutan pereduksi;
campurkan 50 ml H_2SO_4 dengan 300 ml air suling dalam gelas piala 500 ml dan dinginkan sampai suhu ruang kemudian tambahkan 15 g NaCl, 15 g hidroksilamin sulfat, dan 25 g SnCl_2 . Pindahkan kedalam labu ukur 500 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- h) larutan NaBH_4 ;
larutkan 3 g serbuk NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling dalam labu ukur 500 ml.
- i) larutan pengencer;
masukkan 300 ml sampai dengan 500 ml air suling kedalam labu ukur 1000 ml dan tambahkan 58 ml HNO_3 kemudian 67 ml H_2SO_4 . Encerkan dengan air suling sampai tanda garis dan kocok. larutan baku 1000 $\mu\text{g/ml}$ Hg;
larutkan 0,1354 g HgCl_2 dengan kira-kira 25 ml air suling dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 100 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- j) larutan baku 1 $\mu\text{g/ml}$ Hg; dan
pipet 1 ml larutan baku 1000 mg/l Hg ke dalam labu ukur 1000 ml dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 1 mg/l.
- k) larutan baku kerja Hg;
pipet masing-masing 0,25 ml; 0,5 ml; 1 ml; dan 2 ml larutan baku 1 mg/l ke dalam labu ukur 100 ml terpisah dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,0025 $\mu\text{g/ml}$; 0,005 $\mu\text{g/ml}$; 0,01 $\mu\text{g/ml}$; 0,02 $\mu\text{g/ml}$ Hg.

A.15.2.4 Cara kerja

A.15.2.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g contoh (m) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan tambahkan 25 ml H_2SO_4 9 M, 20 ml HNO_3 7 M, 1 ml larutan natrium molibdat 2 %, dan 5 butir sampai dengan 6 butir batu didih,
- b) hubungkan labu destruksi dengan pendingin dan panaskan di atas penangas listrik selama 1 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan selama 15 menit,
- c) tambahkan 20 ml campuran $\text{HNO}_3 : \text{HClO}_4$ (1:1) melalui pendingin,
- d) hentikan aliran air pada pendingin dan panaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Lanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan,
- e) tambahkan 10 ml air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan,
- f) didihkan lagi selama 10 menit,
- g) matikan pemanas dan cuci pendingin dengan 15 ml air suling sebanyak 3 kali kemudian dinginkan sampai suhu ruang,
- h) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 ml secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V),
- i) pipet 25 ml larutan di atas ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis,
- j) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh,
- k) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat "HVG",
- l) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm,

- m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g}/\text{ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y,
- n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C),
- o) lakukan pengerjaan duplo, dan
- p) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.15.2.4.2 Destruksi menggunakan *microwave* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 1 g contoh (m) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 ml HNO_3 , 1 ml H_2O_2 kemudian tutup rapat,
- b) masukkan ke dalam oven *microwave* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat,
- c) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50 ml secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V),
- d) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh,
- e) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat "HVG",
- f) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm,
- g) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g}/\text{ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y,
- h) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C),
- i) lakukan pengerjaan duplo, dan
- j) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.15.2.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan raksa (Hg), (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g}/\text{ml}$);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (ml);
- m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g); dan
- fp adalah faktor pengenceran.

A.15.2.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan raksa (Hg). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.16 Cemarkan arsen (As)

A.16.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As^{5+} direduksi dengan KI menjadi As^{3+} dan direaksikan dengan NaBH_4 atau SnCl_2 sehingga terbentuk AsH_3 yang kemudian dibaca dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimum 193,7 nm.

A.16.2 Peralatan

- a) Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida ("HVG");
- b) tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- c) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) *burner* atau *bunsen*;
- e) pemanas listrik;
- f) labu Kjeldahl 250 ml;
- g) labu ukur 50 ml, 100 ml, 500 ml, dan 1000 ml terkalibrasi;
- h) labu borosilikat berdasar bulat 50 ml;
- i) pipet volumetrik 25 ml;
- j) pipet ukur berskala 0,05 ml atau mikro buret terkalibrasi;
- k) gelas ukur 25 ml; dan
- l) cawan porselen kapasitas 50 ml.

A.16.3 Pereaksi

- a) Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- b) asam perklorat, HClO_4 pekat;
- c) natrium borohidrida, NaBH_4 ;
larutkan 3 g NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis dalam labu ukur 500 ml.
- d) asam klorida, HCl 8 M;
larutkan 66 ml HCl 37 % kedalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- e) timah (II) klorida, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 %;
timbang 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam piala gelas 200 ml dan tambahkan 100 ml HCl 37 %. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- f) kalium iodida, KI 20 %;
timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).
- g) Larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 75 mg/ml;
Larutkan 3,75 g MgO dengan 30 ml H_2O secara hati-hati, tambahkan 10 ml HNO_3 , dinginkan dan encerkan hingga 50 ml dengan air suling;
- h) larutan baku 1000 $\mu\text{g/ml}$ As;
larutkan 1,3203 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20 % dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 L dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- i) larutan baku 100 $\mu\text{g/ml}$ As;
pipet 10 ml larutan baku arsen 1000 $\mu\text{g/ml}$ ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ As.
- j) larutan baku 1 $\mu\text{g/ml}$ As; dan
pipet 1 ml larutan standar arsen 100 mg/l ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$ As.
- k) larutan baku kerja As;
pipet masing-masing 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml dan 5,0 ml larutan baku 1 $\mu\text{g/ml}$ As ke dalam labu ukur 100 ml terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,01 $\mu\text{g/ml}$; 0,02 $\mu\text{g/ml}$; 0,03 $\mu\text{g/ml}$; 0,04 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,05 $\mu\text{g/ml}$ As.

A.16.4 Cara kerja

A.16.4.1 Pengabuan basah

- Timbang 5 g sampai 10 g contoh (m) kedalam labu Kjeldahl 250 ml, tambahkan 5 ml sampai 10 ml HNO_3 pekat dan 4 ml sampai 8 ml H_2SO_4 pekat dengan hati-hati,
- setelah reaksi selesai, panaskan dan tambahkan HNO_3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman,
- tambahkan 2 ml HClO_4 70 % sedikit demi sedikit dan panaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangan setelah penambahan asam perklorat, tambahkan lagi sedikit HNO_3 pekat),
- dinginkan, tambahkan 15 ml H_2O dan 5 ml amonim oksalat jenuh,
- panaskan sehingga timbul uap SO_3 di leher labu,
- dinginkan, pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V),
- pipet 25 ml larutan diatas dan tambahkan 2 ml HCl 8 M, 0.1 ml KI 20 % kemudian kocok dan biarkan minimal 2 menit,
- siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh,
- tambahkan larutan pereduksi (NaBH_4) ke dalam larutan baku kerja As, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat "HVG",
- baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 193,7 nm,
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y,
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C),
- lakukan pengerjaan duplo, dan
- hitung kandungan As dalam contoh.

A.16.4.2 Destruksi menggunakan *microwave* atau destruksi sistem tertutup

- Timbang 1 g contoh (m) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 ml HNO_3 , 1 ml H_2O_2 kemudian tutup rapat,
- masukkan ke dalam oven *microwave* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat,
- setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 25 ml secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis,
- pipet 10 ml larutan destruksi (V) ke dalam labu borosilikat berdasar bulat 50 ml, tambahkan 1 ml larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Uapkan di atas penangas listrik hingga kering dan arangkan. Abukan dalam tanur dengan suhu 450°C (± 1 jam),
- dinginkan, larutkan dengan 2,0 ml HCl 8 M, 0.1 ml KI 20 % dan biarkan minimal 2 menit. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat,
- siapkan NaBH_4 dan HCl dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat,
- tuangkan larutan baku kerja As 0,01 $\mu\text{g/ml}$; 0,02 $\mu\text{g/ml}$; 0,03 $\mu\text{g/ml}$; 0,04 $\mu\text{g/ml}$; 0,05 $\mu\text{g/ml}$ serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan burner serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh,
- baca nilai absorbans tertinggi larutan baku kerja As dan contoh dengan blanko sebagai koreksi,
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y,
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C),
- lakukan pengerjaan duplo, dan
- hitung kandungan As dalam contoh.

A.16.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan arsen (As), (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V \times fp$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/ml);
V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (ml);
m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g); dan
fp adalah faktor pengenceran.

A.16.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16 % dari nilai rata-rata hasil kandungan arsen (As). Jika kisaran lebih besar dari 16 %, maka analisis harus diulang kembali.

A.17 Cemarkan mikroba

A.17.1 Persiapan dan homogenisasi contoh untuk uji Angka Lempeng Total, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan Kapang

A.17.1.1 Prinsip

Pembebasan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel makanan dan untuk mengaktifkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam makanan. Persiapan dan homogenisasi contoh bertujuan agar bakteri terdistribusi dengan baik di dalam contoh makanan yang ditetapkan.

A.17.1.2 Peralatan

- Alat homogenisasi yang sesuai (blender) dengan kecepatan putaran 10000 rpm sampai dengan 12000 rpm;
- penangas listrik;
- neraca kapasitas 2000 g terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g;
- labu ukur 50 ml, 100 ml, 500 ml, dan 1000 ml terkalibrasi;
- gelas piala steril;
- labu erlenmeyer steril;
- botol pengencer steril;
- pipet volumetrik steril;
- tabung reaksi; dan
- pisau, sendok, gunting, dan spatula steril.

A.17.1.3 Larutan pengencer

Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water;

- | | |
|-----------------------------------|--------|
| - KH ₂ PO ₄ | 34 g |
| - air suling | 500 ml |

Atur pH dengan NaOH sehingga pH 7,2, tepatkan volume sampai 1000 ml dengan air suling. Sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Simpan pada refrigerator untuk membuat larutan pengencer 1,25 ml larutan stok diencerkan dengan air suling sampai volume 1000 ml, kemudian dimasukkan ke dalam botol pengencer sebanyak 450 ml dan ke dalam tabung reaksi sebanyak (9 ± 1) ml dan disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.17.1.4 Homogenisasi contoh

- Timbang 50 g contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 450 ml larutan pengencer steril sehingga diperoleh pengenceran 1:10, dan
- kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

A.17.2 Angka lempeng total

A.17.2.1 Prinsip

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam pembenihan yang sesuai selama 48 jam pada suhu $(35 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

A.17.2.2 Peralatan

- Lemari pengering (inkubator) terkalibrasi;
- oven/alat sterilisasi kering terkalibrasi.
- otoklaf;
- alat penghitung koloni (*colony counter*);
- penangas air;
- pipet ukur 1 ml, 5 ml, dan 10 ml steril; dan
- cawan petri gelas/plastik diameter 15 mm x 90 mm steril.

A.17.2.3 Pembenihan dan pengencer

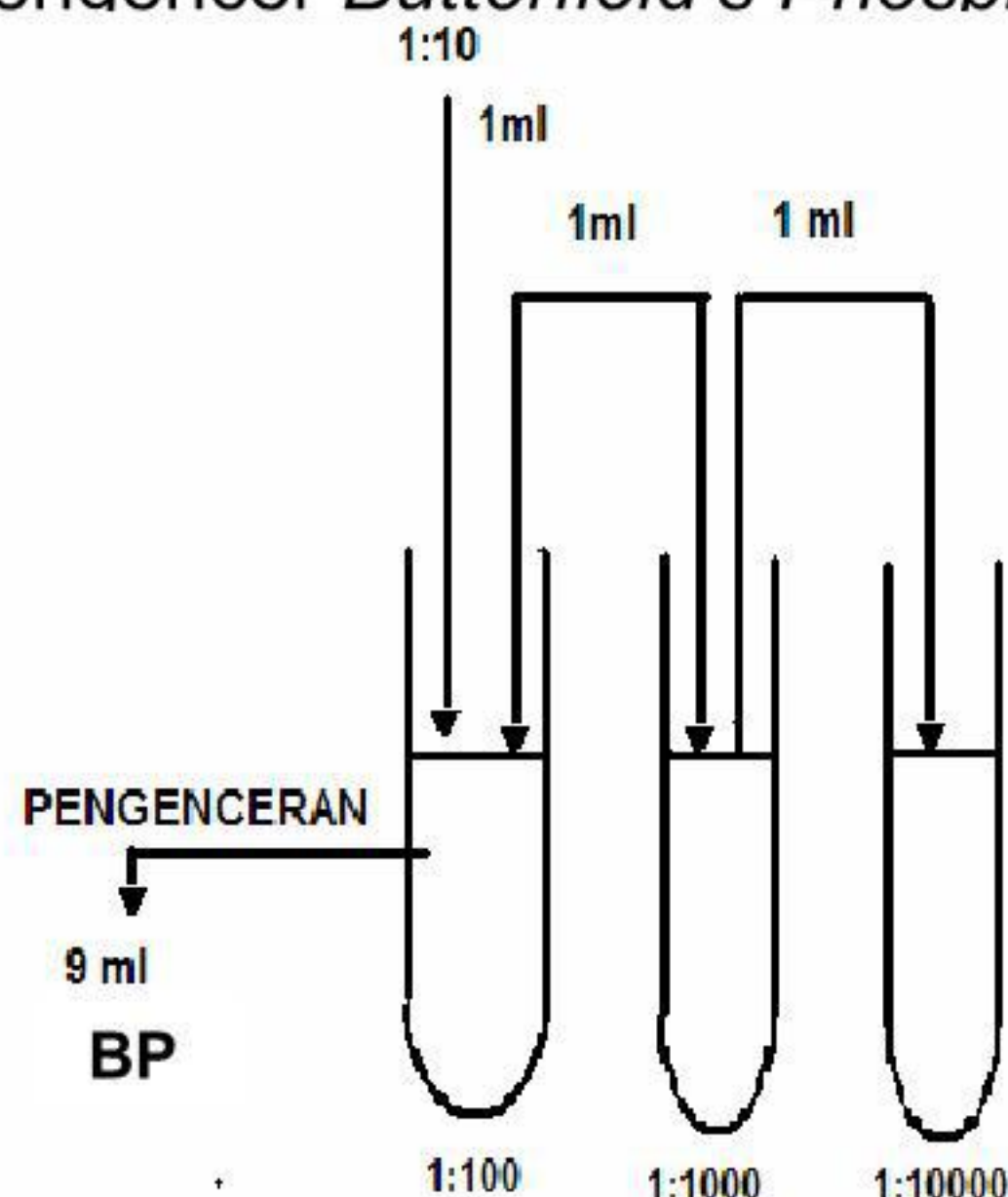
Plate count agar (PCA)

– tryptone	5 g
– yeast extract	2,5 g
– glukosa	1 g
– agar	15 g
– air suling	1000 ml

Larutkan bahan-bahan diatas menjadi 1000 ml dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Masukkan ke dalam botol. Sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu $121 ^\circ\text{C}$ selama 15 menit.

A.17.2.4 Cara kerja

- Buat tingkat pengenceran sesuai kebutuhan seperti pada Gambar B.3 dengan menggunakan larutan pendencer *Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water*;



Gambar B.3 - Tingkat pengenceran menggunakan larutan pengencer *Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water* (BPB)

- b) pipet masing-masing 1 ml dari tingkat pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} ke dalam cawan petri steril secara duplo,
- c) tuangkan 12 ml sampai dengan 15 ml media PCA yang masih cair dengan suhu $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ke dalam masing-masing cawan petri,
- d) goyangkan cawan petri dengan hati-hati (putar dan goyang ke depan, ke belakang, ke kanan dan ke kiri) sehingga contoh dan pembenihan tercampur merata dan memadat;
- e) kerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer untuk setiap contoh yang diperiksa,
- f) biarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat,
- g) masukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik ke dalam lemari pengering pada suhu $35 ^\circ\text{C}$ selama (48 ± 2) jam, dan
- h) catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan petri yang mengandung 25 koloni sampai dengan 250 koloni setelah 48 jam.

A.17.2.5 Perhitungan

Angka lempeng total (koloni/g) = $n \times F$

Keterangan:

- n adalah rata-rata koloni dari dua cawan petri dari satu pengenceran, dinyatakan dalam koloni per gram (koloni/g); dan
F adalah faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai.

A.17.2.6 Pernyataan hasil

A.17.2.6.1 Cara menghitung

- a) Pilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni setiap cawan petri. Hitung semua koloni dalam cawan petri menggunakan alat penghitung koloni. Hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;
- b) jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 koloni atau lebih besar dari 250 koloni, hitung jumlah koloni yang terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
120	25
105	20

$$\text{ALT} = \frac{120 + 105 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 124,9375$$

- c) jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut-turut terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran koloni per g dengan rumus:

$$\text{ALT} = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d]}$$

Keterangan:

- C adalah jumlah koloni dari tiap-tiap petri;
n₁ adalah jumlah petri dari pengenceran pertama yang dihitung;
n₂ adalah jumlah petri dari pengenceran kedua; dan
d adalah pengenceran pertama yang dihitung;

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
131	30
143	25

$$ALT = \frac{131 + 143 + 30 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-2}]} = 164,3357$$

- d) jika jumlah koloni dari masing-masing petri lebih dari 25 koloni nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan;

- jika jumlah koloni per cm^2 kurang dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya sebagai jumlah perkiraan : jumlah bakteri dikalikan faktor pengenceran.

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}	Jumlah bakteri perkiraan
~	640	$1000 \times 640 = 640.000 (6,4 \times 10^5)$

- jika jumlah koloni per cm^2 lebih dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya: area x faktor pengenceran x 100 contoh rata-rata jumlah koloni 110 per cm^2

contoh :

10^{-2}	10^{-3}	area (cm^2)	jumlah bakteri perkiraan
~	7150	65	$> 65 \times 10^3 \times 100 = > 6500.000 (6,5 \times 10^6)$
~	6490	59	$> 59 \times 10^3 \times 100 = > 5900.000 (5,9 \times 10^6)$

- e) jika jumlah koloni dari masing-masing koloni yang tumbuh pada cawan petri kurang dari 25, maka nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 25 koloni dikalikan pengenceran yang terendah; dan

- f) menghitung koloni perambat;

Perambatan pada koloni ada 3 macam, yaitu :

- merupakan rantai yang tidak terpisah;
- perambat yang terjadi diantara dasar cawan petri dan pembenihan; dan
- perambatan yang terjadi pada pinggir atau penukaran pembenihan.

Jika terjadi hanya satu perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap satu. Jika terbentuk satu atau lebih rantai terbentuk dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka uap sumber dihitung sebagai satu koloni.

A.17.2.6.2 Cara menghitung dan membulatkan angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka pertama dan kedua (dimulai dari kiri),

- Jika angka ketiga lebih besar dari 5, maka bulatkan ke atas;
contohnya : 528 dilaporkan sebagai 530 penulisannya $5,3 \times 10^2$
- jika angka ketiga kurang dari 5, maka bulatkan kebawah; dan
contohnya : 523 dilaporkan sebagai 520 penulisannya $5,2 \times 10^2$
- jika angka ketiga sama dengan 5, maka bulatkan sebagai berikut
 - bulatkan ke atas jika angka kedua merupakan angka ganjil; dan
contohnya : 575 dilaporkan sebagai 580 penulisannya $5,8 \times 10^2$
 - bulatkan ke bawah jika angka kedua merupakan angka genap
contohnya : 565 dilaporkan sebagai 560 penulisannya $5,6 \times 10^2$

A.17.3 *Escherichia coli*

A.17.3.1 Prinsip

Pertumbuhan *Escherichia coli* ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham, yang diikuti dengan uji biokimia dan selanjutnya dirujuk pada Tabel APM (Angka Paling Mungkin).

A.17.3.2 Peralatan

- a) Lemari pengering (inkubator), $(35 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- b) penangas air tertutup dengan sistem sirkulasi, $(45,5 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$;
- c) rak untuk tabung reaksi;
- d) pipet Mohr 1 ml dan 10 ml berskala;
- e) botol pengenceran (± 20 ml) gelas borosilikat yang resistan, dengan sumbat karet atau tutup uliran;
- f) tabung reaksi;
- g) tabung Durham;
- h) cawan petri gelas ukuran 15 mm x 100 mm atau plastik ukuran 15 mm x 90 mm, steril; dan
- i) jarum ose (inokulasi), dengan diameter dalam kira-kira 3 mm.

A.17.3.3 Perbenihan pengencer dan pereaksi

- a) *Lauryl sulfate tryptose (LST) broth / Lauryl tryptose (LT) broth*;
- b) *brilliant green lactose bile (BGLB) broth 2 %*;
- c) *Escherichia coli (EC) broth*;
- d) *Levine's eosin methylene blue (L-EMB) agar*;
- e) *plate count agar (PCA)*;
- f) *gram stain*;
- g) *tryptone (tryptophane) broth*;
- h) *pereaksi kovacs'*;
- i) *Methyl red – voges proskauer (MR – VP) broth*;
- j) *pereaksi voges proskauer*;
- k) *larutan methyl red*;
- l) *koser's citrate broth*;
- m) *peptone diluents 0.1 %*;
- n) *pereaksi indole*;
- o) *larutan kalium hidroksida 40 %*;
- p) *buffer fields phosfat buffered dilution water*;
- q) *larutan alpha naphthol 5 %*; dan
- r) kristal kreatin.

A.17.3.4 Cara kerja**B.14.3.4.1 APM – Uji pendugaan untuk *Escherichia coli***

- a) Lakukan persiapan dan homogenisasi contoh seperti pada B.14.1,
- b) inokulasikan masing-masing 1 ml larutan dari setiap tingkat pengenceran (larutan 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3}) ke dalam tiga tabung *Lauryl sulfate tryptose (LST) broth*. Pegang pipet sedemikian sehingga ujung bawah pipet menempel pada tabung. Biarkan isi pipet mengalir 2 detik sampai dengan 3 detik. Pipet jangan ditiup untuk mengeluarkan isinya,
- c) masukkan tabung-tabung tersebut ke dalam inkubator pada suhu $35 ^\circ\text{C}$ selama (48 ± 2) jam,
- d) amati tabung-tabung tersebut pada pada jam ke- (24 ± 2) . Jika ada tabung yang telah mengandung gas, maka tabung tersebut dinyatakan "positif",
- e) tabung-tabung yang belum mengandung gas dinyatakan "negatif", lanjutkan inkubasi selama 24 jam,
- f) catat adanya pembentukan gas setelah inkubasi (48 ± 2) jam, dan nyatakan tabung tersebut "positif", dan
- g) lakukan uji penegasan terhadap semua tabung yang positif untuk uji pendugaan.

B.14.3.4.2 APM – Uji penegasan untuk *Escherichia coli*

- Pindahkan satu mata Ose dari setiap tabung LST yang positif ke dalam tabung EC broth yang berlainan,
- Inkubasikan tabung-tabung EC tersebut ke dalam penangas air yang bersirkulasi, selama (24 ± 2) jam pada suhu $(45,5 \pm 0,2)$ °C, tabung yang telah terbentuk gas dinyatakan "positif",
- apabila negatif, inkubasikan dan periksa kembali pada jam ke- (48 ± 2) . Jika telah terbentuk gas maka tabung tersebut dinyatakan "positif", dan
- Lakukan uji lengkap terhadap semua tabung yang positif untuk uji penegasan.

B.14.3.4.3 Uji lengkap untuk *Escherichia coli*

- Kocok tabung-tabung EC yang positif secara hati-hati,
- digoreskan/ditanamkan pada satu cawan agar L-EMB, sedemikian rupa hingga dihasilkan koloni yang terpisah-pisah dengan jarak minimum 0,5 cm,
- inkubasikan pinggan L-EMB tersebut selama 18 jam sampai dengan 24 jam pada suhu (35 ± 1) °C,
- periksa cawan-cawan terhadap adanya koloni yang berwarna hijau dengan atau tanpa kilat logam,
- dari tiap cawan L-EMB, pindahkan maksimal 5 koloni yang mencurigakan pada tabung agar miring PCA,
- inkubasikan tabung-tabung agar miring tersebut selama 18 jam sampai dengan 24 jam pada suhu 35 °C dan gunakan untuk uji selanjutnya,
- buatlah pewarnaan Gram dari tiap biakan. *E coli* adalah gram negatif dan berbentuk batang tak berspora yang harus diuji menggunakan reaksi-reaksi IMVIC seperti dibawah ini serta harus diinokulasikan kembali ke tabung LST untuk menegaskan adanya produksi gas,
 - pembentukan indol
 - Inokulasi tabung *tryptone broth*,
 - inkubasi selama (24 ± 2) jam pada suhu 35 °C,
 - uji adanya indol dengan menambahkan 0,2 ml sampai dengan 0,3 ml pereaksi Kovacs', dan
 - uji ini positif bila lapisan atas berwarna merah.
 - uji *Voges Proskauer*
 - Inokulasi tabung medium MR-VP dari setiap tabung PCA dan inkubasikan selama (48 ± 2) jam pada suhu 35 °C,
 - secara aseptis pindahkan 1 ml biakan tabung reaksi steril,
 - tambahkan 0,6 ml larutan 5 % *alpha naphthol* dalam alkohol, 0,2 ml larutan KOH 40 % dan beberapa butir kristal kreatin, dan
 - uji *Voges Proskauer* adalah positif bila terbentuk warna eosin merah muda dalam waktu 2 jam.
 - uji *Methyl red*
 - Setelah uji VP, inkubasikan kembali tabung MR-VP selama 48 jam pada suhu 35 °C;
 - tambahkan 5 tetes indikator *methyl red* pada setiap tabung, dan
 - biakan dianggap MR positif bila terjadi warna merah, MR negatif bila kuning.
 - penggunaan Sitrat
 - Dengan hati-hati tabung *Koser's citrate broth* diinokulasi dengan menggunakan jarum lurus sedemikian rupa sehingga hanya mengenai permukaan medium. Terlalu banyak inokulasi dapat menyebabkan terbawanya zat-zat lain,
 - inkubasikan selama 96 jam pada suhu 35 °C, dan
 - adanya pertumbuhan dalam tabung yang ditunjukkan dengan warna keruh menandakan uji yang positif.

- Pembentukan gas dari *Lactose*
 - Inokulasikan tabung LST dari setiap agar miring PCA. Inkubasikan selama (48 ± 2) jam pada suhu 35°C , dan
 - periksa tabung tabung itu terhadap adanya pembentukan gas.

B.14.3.4.4 Klasifikasi dan laporan

Tabel B.1 - Reaksi biokimia *E. coli* pada uji IMVIC

Jasad	Indol	<i>Methyl Red</i>	<i>Voges Proskauer</i>	Sitrat
<i>Escherichia Coli</i>				
Varitas I	+	+	-	-
Varitas II	-	+	-	-

- Klasifikasikan sebagai *E. coli* apabila IMVIC adalah ++-- atau -+-, pewarnaan gram menunjukkan gram negatif bentuk batang tidak berspora yang membentuk gas dalam kaldu LST dengan waktu inkubasi (48 ± 2) jam pada suhu 35°C
- Hitunglah APM *E. coli* dengan menggunakan Tabel B.2 APM berdasarkan jumlah tabung - tabung dari 3 seri pengenceran yang telah dipastikan mengandung *E. coli*.

Tabel B.2 - APM per 1 g contoh bila menggunakan 3 tabung untuk setiap tingkat pengenceran 0,1; 0,01; dan 0,001 g/ml contoh

Tabung yang positif			APM	Tabung yang positif			APM
0,1	0,01	0,001		0,1	0,01	0,001	
0	0	0	< 3	2	2	0	21
0	0	1	3	2	2	1	28
0	1	0	3	2	2	2	35
0	1	1	6	2	3	0	29
0	2	0	6	2	3	1	36
0	3	0	9	3	0	0	23
1	0	0	4	3	0	1	39
1	0	1	7	3	0	2	64
1	0	2	11	3	1	0	43
1	1	0	7	3	1	1	75
1	1	1	11	3	1	2	120
1	2	0	11	3	1	3	160
1	2	1	15	3	2	0	93
1	3	0	16	3	2	1	150
2	0	0	10	3	2	2	216
2	0	1	14	3	2	3	290
2	0	2	20	3	3	0	240
2	1	0	15	3	3	1	460
2	1	1	20	3	3	2	1100
2	1	2	27	3	3	3	> 1100

A.17.4 *Bacillus cereus*

A.17.4.1 Prinsip

Pertumbuhan *Bacillus cereus* ditandai dengan terbentuknya koloni eosin merah muda penghasil *lechitinase*, yang diikuti dengan uji konfirmasi pada berbagai media.

A.17.4.2 Peralatan

- Lemari pengering (inkubator), $(30 \pm 2) ^\circ\text{C}$ dan $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$;
- alat homogenisasi yang sesuai dengan kecepatan putaran 18000 rpm sampai dengan 21000 rpm;
- penangas air, $(48 - 50) ^\circ\text{C}$;
- mikroskop;
- alat penghitung koloni;
- vorteks;
- bunsen besar dan kecil;
- rak tabung biakan;
- botol, steril;
- tabung anaerobik GasPak;
- tabung biakan, 13 x 100 mm, steril;
- pipet 1 ml, 5 ml, dan 10 ml, ketelitian 0,1 ml yang terbuat dari gelas;
- cawan petri, 90 mm sampai dengan 100 mm dan 140 mm sampai dengan 150 mm steril;
- batang penyebar steril, diameter 3 mm sampai dengan 4 mm dengan area penyebar 45 mm sampai dengan 55 mm;
- jarum inokulasi (ose), berukuran 2 mm dan 3 mm; dan
- pena penanda.

A.17.4.3 Media dan pereaksi

- Mannitol-egg yolk-polymyxin* (MYP) agar plates;
- egg yolk emulsion*, 50 %;
- trypticase soy-polymyxin broth*;
- larutan polimiksin B untuk MYP agar (0,1 %) dan *trypticase soy-polymyxin broth* (0,15 %);
- lisozyme 0,001 %;
- phenol red glucose broth*;
- tyrosine agar*;
- lysozyme broth*;
- voges-Proskauer medium*;
- nutrient broth*;
- nitrate broth*;
- nutrient agar* untuk *B. cereus*;
- sulfanilic acid reagent*;
- alfa naphthol reagent*;
- butterfield's phosphate-buffered dilution water* yang disterilkan dalam botol dengan volume akhir 450 ± 5 ml dan 90 ± 2 ml;
- Voges-Proskauer test reagents*;
- buffer fosfat;
- larutan kalsium hidroksida 40 %;
- kristal kreatin; dan
- metanol.

A.17.4.4 Persiapan contoh

- Secara aseptik, timbang 50 g contoh ke dalam blender yang bersih dan steril. Tambahkan 450 ml *butterfield's phosphate-buffered dilution water* (1:10) dan kocok selama 2 menit pada kecepatan tinggi (18.000 rpm sampai dengan 21.000 rpm), dan
- buat seri pengenceran dengan menggunakan larutan *butterfield's phosphate-buffered dilution water* (1:10).

A.17.4.5 Angka Lempeng Total - *B. cereus*

- Buat tingkat pengenceran dari 10^{-2} sampai dengan 10^{-4} dengan memindahkan 10 ml contoh yang telah dihomogenkan ke dalam 90 ml larutan pengencer, aduk dengan kuat dan lanjutkan ke pengenceran 10^{-4} ,
- inokulasi sebanyak 0,1 ml masing-masing tingkat pengenceran (termasuk 1:10) menggunakan batang penyebar steril di atas permukaan media MYP agar, lakukan secara duplo,
- inkubasikan media MYP agar pada suhu 30 °C selama 24 jam,
- amati koloni yang dikelilingi oleh zona endapan yang menunjukkan bahwa *B. cereus* menghasilkan *lecithinase* berwarna merah muda. Warnanya akan menjadi lebih jelas apabila inkubasi dilanjutkan,
- jika warna tidak jelas, lanjutkan inkubasi selama 24 jam lagi sebelum perhitungan koloni,
- pilih media yang mengandung perkiraan 15 koloni sampai dengan 150 koloni eosin merah muda penghasil *lecithinase*,
- beri tanda di bagian dasar cawan petri berdasarkan zona yang terbentuk menggunakan pena hitam untuk memudahkan perhitungan dan penjumlahan koloni *B. cereus*,
- ambil 5 atau lebih koloni yang positif mengandung *B. cereus* dari media MYP agar dan pindahkan ke media nutrient agar miring untuk konfirmasi *B.cereus*, dan
- hitung jumlah *B.cereus* per gram contoh berdasarkan presentase koloni yang telah diuji dan dikonfirmasi sebagai *B. cereus*.

Contoh perhitungan:

Jika jumlah rata-rata yang diperoleh pada pengenceran 10^{-3} adalah 65 dan 4 dari 5 koloni telah diuji dan dikonfirmasi sebagai *B. cereus* maka jumlah sel *B.cereus* per gram contoh adalah :

$$65 \times 4/5 \times 1.000 \times 10 = 520.000$$

Keterangan:

Faktor pengenceran lebih tinggi sepuluh kali dari pengenceran contoh sebab hanya 0,1 ml contoh diuji

A.17.4.6 APM - *B. cereus*

- Teknik APM direkomendasikan untuk menghitung *B.cereus* dalam contoh yang diharapkan mengandung *B. cereus* lebih kecil dari 10 per gram contoh,
- inokulasikan masing-masing 1 ml larutan dari setiap tingkat pengenceran (larutan 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3}) ke dalam tiga tabung *trypticase soy-polymyxin broth*,
- inkubasikan tabung-tabung tersebut dalam inkubator pada suhu 30 °C selama (48 ± 2) jam;
- amati tabung-tabung tersebut pada pada jam ke- (48 ± 2) untuk melihat pertumbuhan bakteri *B. cereus*,
- gores biakan dari tabung yang positif dengan ose ke dalam media MYP agar dan inkubasi selama 24 jam sampai dengan 48 jam pada suhu 30 °C,
- ambil 1 atau lebih koloni yang berwarna eosin merah muda dengan *lechitinase* positif dari media MYP agar dan pindahkan ke media nutrien agar miring untuk konfirmasi *B.cereus*, dan

g) konfirmasi *B. cereus* dapat dilihat pada B.14.4.7.

A.17.4.7 Uji penegasan untuk *B. cereus*

A.17.4.7.1 Kultur campuran

- Ambil 5 atau lebih koloni yang berwarna eosin merah muda dengan *lechitinase* positif dari media MYP agar dan pindahkan ke media agar miring untuk konfirmasi *B. cereus*,
- inkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C,
- Lakukan pengamatan secara mikroskopis, disertai pewarnaan gram. *B. cereus* akan tampak berbentuk batang besar, gram positif, dengan rantai pendek hingga panjang, spora berbentuk ellips, letaknya ditengah sampai sub terminal dan spora tersebut tidak menggembungkan sporangium,
- pindahkan 3 mm ose biakan dari setiap agar miring ke tabung (13 x 100) mm yang mengandung 0,5 ml larutan bufer fosfat steril kemudian dikocok dengan vorteks, untuk mensuspensikan biakan, dan
- suspensi biakan ini digunakan untuk konfirmasi *B. cereus* berikut:

A.17.4.7.2 Uji *phenol red glucose broth*

- Inokulasikan 3 ml suspensi biakan menggunakan jarum ose 2 mm,
- inkubasi tabung tersebut secara anaerobik selama 24 jam pada suhu 35 °C dalam tabung anaerobik GasPak, dan
- Kocok tabung tersebut dengan kuat dan amati pertumbuhan *B. cereus* yang ditandai oleh peningkatan kekeruhan dan perubahan warna dari merah ke kuning yang menunjukkan bahwa asam telah dihasilkan secara anaerobik dari glukosa. Perubahan warna dari merah ke orange/kuning bisa terjadi pada sebagian tabung kontrol yang tidak diinokulasi. Hal ini disebabkan oleh terjadinya pengurangan pH akibat pemaparan media oleh CO₂ yang terbentuk dalam tabung anaerobik GasPak. Gunakan kontrol positif dan kontrol negatif untuk menyakinkan perbedaan antara reaksi positif dan positif palsu.

A.17.4.7.3 Uji *nitrate broth*

- Inokulasikan 5 ml suspensi biakan menggunakan jarum ose 3 mm,
- inkubasi tabung tersebut selama 24 jam pada suhu 35 °C,
- untuk uji nitrit, tambahkan 0,25 ml masing-masing pereaksi *sulfanilic acid* dan pereaksi *alpha naphthol* ke dalam setiap tabung, dan
- warna oranye yang terbentuk dalam 10 menit menunjukkan bahwa nitrat telah direduksi menjadi nitrit.

A.17.4.7.4 Uji *modified VP medium*

- Inokulasikan 5 ml suspensi biakan menggunakan ose 3 mm,
- inkubasi tabung tersebut selama (48 ± 2) jam pada suhu 35 °C,
- untuk uji *acetylmethyl-carbinol*, pipet 1 ml biakan ke dalam tabung uji (16 x 125) mm, tambahkan 0,6 ml larutan *alpha naphthol*, dan 0,2 ml kalium hidroksida (KOH) 40 %,
- aduk dan tambahkan sedikit kristal kreatin,
- amati setelah didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang, dan
- uji positif apabila terbentuk warna ungu.

A.17.4.7.5 Uji *tyrosine agar*

- Inokulasikan suspensi biakan dengan ose 3 mm ke seluruh permukaan media miring agar tirosin,
- inkubasi media miring tersebut selama 48 jam pada suhu 35 °C,

- c) amati zona bening yang terbentuk yang menunjukkan bahwa tirosin telah terdekomposisi, dan
- d) jika hasil uji negatif maka inkubasi dilanjutkan selama 7 hari sebelum hasil dinyatakan negatif.

A.17.4.7.6 Uji *lysozyme broth*

- a) Inokulasikan 2,5 ml *nutrient broth* yang mengandung 0,001 % lisozim dengan 2 mm ose suspensi biakan,
- b) inokulasikan juga 2,5 ml *nutrient broth* tanpa mengandung 0,001 % lisozim sebagai kontrol positif,
- c) inkubasi tabung tersebut selama 24 jam pada suhu 35 °C,
- d) uji pertumbuhan dalam *lysozyme broth* dan dalam kontrol *nutrient broth*, dan
- e) inkubasi tabung negatif selama 24 jam lagi sebelum dibuang.

A.17.4.7.7 Uji MYP agar

- a) Uji ini tidak diperlukan apabila hasil uji telah jelas dengan menggunakan media agar MYP dan tidak ada gangguan dari mikroorganisme yang lain,
- b) bagi bagian dasar cawan petri menjadi 6 bagian sampai dengan 8 bagian yang sama menggunakan pena,
- c) inokulasikan disetiap bagian MYP agar tersebut dengan cara menyentuh permukaan MYP agar dengan 2 mm ose yang berisi kultur secara hati-hati. Dalam satu petri dapat diuji 6 atau lebih kultur,
- d) Biarkan inokulum diserap sempurna sebelum diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 35 °C,
- e) amati terbentuknya *lecitinase* yang ditunjukkan oleh zona endapan disekitar pertumbuhan,
- f) manitol tidak difermentasi oleh isolat jika pertumbuhan dan disekitar media berwarna eosin merah muda. Warna kuning menunjukkan bahwa asam diproduksi dari manitol, dan
- g) koloni *B. cereus* biasanya positif *lecitinase* dan negatif mannitol pada MYP agar.

A.17.4.7.8 Hasil uji konfirmasi *B. cereus*

Konfirmasi *B. cereus* apabila:

- a) Menghasilkan gram positif dengan spora yang tidak sebesar sporangium,
- b) menghasilkan lesitinase dan tidak memfermentasikan manitol dalam media MYP agar,
- c) tumbuh dan menghasilkan asam dari glukosa secara anaerobik,
- d) mereduksi nitrat menjadi nitrit
- e) menghasilkan *acetylmethylcarbinol*,
- f) menguraikan L-tyrosine, dan
- g) tumbuh dalam *lysozyme* 0,001 %.

A.17.5 Kapang

A.17.5.1 Prinsip

Pertumbuhan kapang dalam media yang sesuai, setelah diinkubasikan pada suhu $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama 5 hari.

A.17.5.2 Peralatan

- a) Lemari pengering (inkubator) $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ terkalibrasi;
- b) otoklaf;

- c) penangas air, $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- d) alat penghitung koloni;
- e) mikroskop;
- f) cawan petri 15 mm x 100 mm; dan
- g) pipet ukur 1 ml dan 10 ml.

A.17.5.3 Pembenihan dan pengencer

Pilihan penggunaan media:

- a) Media dengan penambahan larutan antibiotik;
 - *dichloran rose bengal chloramphenicol* (DRBC) agar;
 - *dichloran 18 % glycerol* (DG 18) agar;
 antibiotik ditambahkan di media kapang untuk mencegah pertumbuhan bakteri. *Chloramphenicol* adalah salah satu pilihan antibiotik, karena stabil saat diotoklaf. Konsentrasi antibiotik yang diizinkan adalah 100 mg per liter media. Jika tampak pertumbuhan bakteri, siapkan media dengan penambahan 50 mg per liter *chloramphenicol* sebelum otoklaf dan 50 mg per liter *chlortetracycline* steril saat media mulai di kondisikan, tepat sebelum menuang media dalam cawan.
- b) *plate count agar* (PCA);
tambahkan 100 mg *chloramphenicol* per liter jika menggunakan media ini. Media ini tidak cocok jika diduga ada kapang menyebar (contoh *Mucor*, *Rhizopus* dll);
- c) *malt agar* (MA);
- d) *malt extract agar* (kapang) (MEAYM); atau
- e) *potato dextrose agar* (PDA):

- <i>infusion from white potatoes</i>	200 g
- <i>dextrose</i>	20 g
- <i>agar</i>	20 g
- air suling	1000 ml

 Larutkan semua bahan di atas. Masukkan dalam labu, sterilkan pada suhu $121 ^\circ\text{C}$ selama 15 menit. Sebelum dipergunakan dinginkan sampai $50 ^\circ\text{C}$ dan pH diatur 3,5 dengan asam tartrat 10 % steril. Penurunan pH dapat diganti dengan penambahan 4 ml antibiotik (1 g/100 ml). Campurkan, kemudian tuangkan ke dalam cawan petri.

A.17.5.4 Cara kerja

- a) Lakukan persiapan dan homogenisasi contoh sesuai B.14.1,
- b) terdapat dua metode persiapan media dalam cawan, yaitu :
 - metode menyebar pada cawan (untuk pilihan media DRBC dan DG 18):
pipet 0,1 ml masing-masing pengenceran secara aseptik ke dalam media padat dan sebarkan merata dengan menggunakan batang gelas.
 - metode menuang pada cawan (untuk pilihan media DG 18):
pipet 1,0 ml masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri 15 mm x 100 mm dan sesegera mungkin tuangkan 20 ml sampai dengan 25 ml media. Campurkan dengan menggoyang cawan secara perlahan searah jarum jam, kemudian berlawanan arah jarum jam dalam jangka 1 menit sampai dengan 2 menit.
- c) biarkan hingga campuran dalam cawan petri membeku,
- d) pipet masing-masing 1 ml dari pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-2} ke dalam cawan petri steril secara duplo,
- e) masukkan semua cawan petri dengan posisi tidak terbalik ke dalam inkubator dan inkubasi pada ruang gelap bersuhu $25 ^\circ\text{C}$ selama 5 hari,
- f) hitung koloni kapang (perhitungan dapat dilakukan mulai hari ke tiga sampai dengan hari ke lima). Jika setelah 5 hari tidak ada yang tumbuh, tambahkan waktu inkubasi selama 48 jam, dan
- g) nyatakan hasil perhitungan sebagai jumlah kapang per gram contoh.

A.17.5.5 Pernyataan hasil**A.17.5.5.1 Cara menghitung**

Cara menghitung kapang seperti cara menghitung pada angka lempeng total.

A.17.5.5.2 Cara menghitung dan membulatkan angka

Cara menghitung dan membulatkan angka kapang seperti cara menghitung dan membulatkan angka pada angka lempeng total.



Bibliografi

- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 923.03, Ash of Flour*, 18th Edition, Chapter 32.1.05.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 925.10, Solids (Total) and Moisture in Flour, Air Oven Method*. 18th Edition, Chapter 32.1.03.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 930.28, Sulfites in Foods Optimized Monier-Williams Method*. 18th Edition, Chapter 47.3.4S3.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 943.02, pH of Flour, Potentiometric Method* 18th Edition, Chapter 32.1.20.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 963.02, Silica in Liming Material, Gravimetric Method* 18th Edition, Chapter 1.3.02.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 965.22, Sorting Corn Grits, Sieving Method* 18th Edition, Chapter 27.4.02.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 971.21, Mercuri in Foods, Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.22.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 999.11, Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods: Atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing*, 18th Edition, Chapter 9.1.09.
- Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method*, 18th Edition, Chapter 9.1.01.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Kategori Pangan. 2006. Kategori Pangan 06.0.
- CODEX Alimentarius Commission. 1996, *FAO/WHO Codex Alimentarius Sampling Plans for Prepackaged Food (AQL-6.5) CAC/RM 42-1969*.
- Directorate General of Health Services, Ministry of Health and Family Welfare Government of India. 2005. *Manual of methods of Analysis of Food, Cereals and Cereal Products, 13.0 Microscope Structure of Cereal Starches*.
- Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Aerobic Plate Count*. Chapter 3.
- Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Bacillus cereus*. Chapter 14.
- Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Mold, Yeast and Mycotoxin*. Chapter 18.
- Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2002. *Enumeration of Echerichia coli and The Coliform Bacteria*. Chapter 4.
- Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2003. *Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate*. Chapter 1.





BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id